

06.10.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

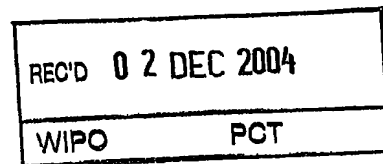
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 8 月 2 8 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 3 0 4 8 4 7
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 3 0 4 8 4 7]

出 願 人 今 西 武
Applicant(s):

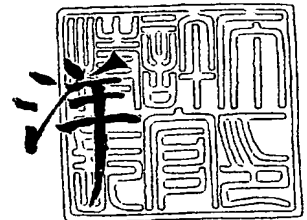


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 1 月 1 8 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 031557
【提出日】 平成15年 8月28日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12N
【発明者】
 【住所又は居所】 奈良県奈良市千代ヶ丘2丁目2-18
 【氏名】 今西 武
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府高槻市日吉台四番町2034
 【氏名】 小比賀 聡
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府箕面市半町2丁目22番10号
 【氏名】 宮下 和之
【特許出願人】
 【識別番号】 594147039
 【氏名又は名称】 今西 武
【代理人】
 【識別番号】 100089705
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区
 ユアサハラ法律特許事務所
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 社本 一夫
 【電話番号】 03-3270-6641
 【ファクシミリ番号】 03-3246-0233
【選任した代理人】
 【識別番号】 100076691
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 増井 忠次
【選任した代理人】
 【識別番号】 100075270
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 小林 泰
【選任した代理人】
 【識別番号】 100080137
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 千葉 昭男
【選任した代理人】
 【識別番号】 100096013
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 富田 博行
【選任した代理人】
 【識別番号】 100075236
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 栗田 忠彦
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 051806
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1

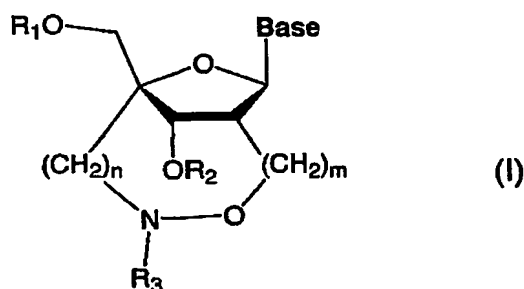
【物件名】 明細書 1
【物件名】 要約書 1
【物件名】 図面 1

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

下記一般式 (I) で表される化合物及びその塩。

【化 1】



(式中、Base は、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R₁、R₂は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシル基、スルホニル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、または、-P (R₄) R₅ [式中、R₄ 及び R₅ は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～5 のアルキルチオ基、炭素数 1～6 のシアノアルコキシ基、または、炭素数 1～5 のアルキル基で置換されたアミノ基を示す。] を示す。

R₃は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシル基、スルホニル基、及び機能性分子ユニット置換基を示す。

m は、0～2 の整数、及び n は、1～3 の整数である。)

【請求項 2】

R₁が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、脂肪族あるいは芳香族スルホニル基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された 1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、または、シリル基である、請求項 1 に記載の化合物及びその塩。

【請求項 3】

R₁が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、メタンスルホニル基、p-トルエンスルホニル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、トリチル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基、または、tert-ブチルジフェニルシリル基である、請求項 1 に記載の化合物及びその塩。

【請求項 4】

R₂が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、脂肪族あるいは芳香族スルホニル基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された 1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基、または、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。

【請求項 5】

R₂が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、メタンスルホニル基、p-トルエンスルホニル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、tert-ブチルジフェニルシリル基、-P (OC₂H₄CN) (N(i-Pr)₂)、-P (OCH₃) (N(i-Pr)₂)、ホスホニル基、または、2-クロロフェニルもしくは 4-クロロフェニルリン酸基である、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。

【請求項 6】

R₃が、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルケニル基、炭素数 6～14 のアリール基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、メタンスルホニル基、

やp-トルエンスルホニル基などの低級脂肪族あるいは芳香族スルホニル基又はアセチル基などの炭素数1～5の脂肪族アシル基やベンゾイル基などの芳香族アシル基である請求項1～5のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

【請求項7】

R₃の機能的分子ユニット置換基が、蛍光あるいは化学発光標識分子、核酸切断活性官能基、又は細胞内若しくは核内移行シグナルペプチドである請求項1～6のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

【請求項8】

Baseが、プリン-9-イル基、2-オキソ-ピリミジン-1-イル基、または下記α群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは2-オキソ-ピリミジン-1-イル基である、請求項1～7のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

α群：水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数1～5のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数1～5のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基、および、ハロゲン原子。

【請求項9】

Baseが、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、ウラシル）、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、チミル）、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、5-メチルシトニル）、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである、請求項1～8のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

【請求項10】

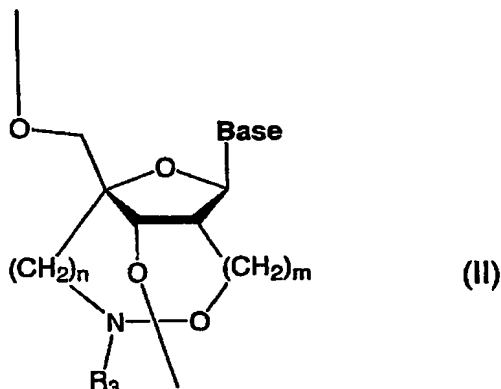
mが0であり、nが1である、請求項1～9のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

【請求項11】

下記一般式（II）で表されるヌクレオシド類縁体の単位構造の1種以上を1または2個以上含有するDNAオリゴヌクレオチド又はRNAオリゴヌクレオチド類縁体としてのオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。但し、オリゴヌクレオチド類縁体中の各ヌクレオシド間の結合形態は、天然核酸と同じリン酸ジエステル結合〔-OP(O₂⁻)O-〕以外にホスホロチオアート結合〔-OP(O)(S⁻)O-〕を1又は2個以上

含有していてもよく、また、前記の構造の 1 種以上を 2 個以上含有する場合は、当該構造間で Base は同一または異なることができる。

【化 2】



(式中、Base は、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R₃ は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラキル基、アシル基、スルホニル基、シリル基、及び機能性分子ユニット置換基を示す。

m は、0～2 の整数、及び n は、1～3 の整数である。

【請求項 12】

R₁ が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、脂肪族あるいは芳香族スルホニル基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された 1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、または、シリル基である、請求項 11 に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【請求項 13】

R₁ が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、メタンスルホニル基、p-トルエンスルホニル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、トリチル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基、または、tert-ブチルジフェニルシリル基である、請求項 11 に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【請求項 14】

R₂ が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、脂肪族あるいは芳香族スルホニル基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された 1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基、または、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である、請求項 11～13 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【請求項 15】

R₂ が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、メタンスルホニル基、p-トルエンスルホニル基、tert-ブチルジフェニルシリル基、-P(OC₂H₄CN)(N(i-Pr)₂)、-P(OC₂H₄CN)(N(i-Pr)₂)、ホスホニル基、または、2-クロロフェニルもしくは 4-クロロフェニルリン酸基である、請求項 11～13 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【請求項 16】

R₃ が、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルケニル基、炭素数 6～14 のアリール基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、メタンスルホニル基や p-トルエンスルホニル基などの低級脂肪族あるいは芳香族スルホニル基又はアセチル基などの炭素数 1～5 の脂肪族アシル基やベンゾイル基などの芳香族アシル基である、請求項 11～15 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容

される塩。

【請求項 17】

R₃ の機能性分子ユニット置換基が、蛍光あるいは化学発光標識分子、核酸切断活性官能基、又は細胞内若しくは核内移行シグナルペプチドである請求項 11～16 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【請求項 18】

Base が、プリン-9-イル基、2-オキソ-ピリミジン-1-イル基、または下記 α 群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは 2-オキソ-ピリミジン-1-イル基である、請求項 11～17 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

α 群: 水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数 1～5 のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数 1～5 のアルキル基、および、ハロゲン原子。

【請求項 19】

Base が、6-アミノプリン-9-イル (即ち、アデニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル (即ち、グアニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、シトシニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、5-メチルシトシニル)、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである、請求項 11～18 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【請求項 20】

m が 0 であり、n が 1 である、請求項 11～19 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

【書類名】明細書

【発明の名称】N-O結合性架橋構造型新規人工核酸

【技術分野】

【0001】

本発明は、安定で優れたアンチセンスもしくはアンチジーン活性、又は特定遺伝子の検出薬若しくは増幅開始の為にプライマーなどとして優れた活性を有し、また、各種の生理・生物活性物質類、医薬品類の材料、RNA干渉法(RNAiあるいはsiRNA)やデコイ法用などの二重鎖オリゴヌクレオチドの機能性材料、cDNAなど一本鎖核酸を標的とするDNAチップ、モレキュラービーコン(molecular beacon)などの機能性素材、様々なアンチセンス法(リボザイム、DNAザイムを含む)、アンチジーン法や遺伝子相同組み換え法用途への機能性素材、蛍光や発光物質との組合せによる生体微量成分の高感度分析用材料などとして有用な、オリゴヌクレオチド類縁体及びその製造中間体であるヌクレオシド類縁体に関する。

【背景技術】

【0002】

1978年アンチセンスオリゴヌクレオチド(アンチセンス分子)がインフルエンザウイルスの感染を阻害したとの報告が初めてなされた。以後、ガン遺伝子発現やAIDS感染を阻害したとの報告もなされている。アンチセンスオリゴヌクレオチドが望ましくない遺伝子の発現を特異的に制御することから、医薬品として近年、最も期待されている分野の一つである。

【0003】

アンチセンス法とは、DNA→mRNA→タンパク質という、いわゆるセントラルドグマの一連の流れをアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて制御しようという概念に基づいている。

【0004】

しかしながら、天然型DNAやRNAオリゴヌクレオチドをアンチセンス分子としてこの方法に適用した場合、生体内の酵素により加水分解を受けたり、細胞膜透過性が高くないなどの問題が生じた。そしてこれらを解消するために核酸誘導体が数多く合成され、研究が重ねられてきた。例えば、リン原子上の酸素原子をイオウ原子に置換したホスホロチオアート、メチル基に置換したメチルホスホナート、また最近になっては、リン原子も炭素原子で置換したものやリボースを非環式骨格にした分子も合成されている(F. Eckstein et al., Biochem., 18, 592(1979); P.S. Miller et al., Nucleic Acids Res., 11, 5189 (1983); P. Herdewijn et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1567 (1993); P.E. Nielsen et al., Science, 254, 1497 (1991)); C.A. Stein and A.M. Krieg (ed) "Applied Antisense Oligonucleotide Technology," Willey-Liss (1998); J.J. Toulme et al., Prog. Nucl. Acid Rev. Mol. Biol., 67, 1 (2001)など。

【0005】

しかし、いずれの人工オリゴヌクレオチド類の場合も、一本鎖RNAやDNAに対する二重鎖形成能、二重鎖DNAに対する三重鎖形成能、生体内での安定性またはオリゴヌクレオチドの合成の容易さ等の点で十分に満足のいくヌクレオシドおよびオリゴヌクレオチド類縁体が得られていない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

このような従来技術に鑑みて、生体内で細胞膜透過性が高く、酵素の加水分解を受けにくく、しかも合成が容易であり、アンチセンス法、アンチジーン法、RNA干渉法、遺伝子相同組み換え法、デコイ法などに有用なヌクレオチド類縁体が提供されることが望まれている。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明の発明者等は、各種の生理・生物活性物質類、医薬品類の材料、RNA干渉法（Nature, Vol. 411, 494-498, 2001）、デコイ用二重鎖オリゴヌクレオチドの機能性材料、cDNAなど一本鎖核酸を標的とするDNAチップ、モレキュラービーコン（molecular beacon）などの機能性素材、様々なアンチセンス法（リボザイム、DNAザイムを含む）、アンチジーン法や遺伝子相同組み換え法用途への機能性素材、蛍光や発光物質との組合せによる生体微量成分の高感度分析用材料などとして有用であろう、核酸の糖部分を修飾した核酸類縁体（人工核酸）を設計し、それを合成してその有用性を確認した。

【0008】

後の実施例及び実験例で詳細に説明するように、本発明の一つである人工核酸2',4'-BNA^{NC}ユニット〔一般式（I）（II）で、R₁とR₂が水素、R₃がメチル基〕を導入して合成される、DNA若しくはRNAオリゴヌクレオチド類縁体は下記のような優れた特性を有することが確認された。すなわち、

【0009】

（1）相補なRNA鎖に対する二重鎖形成能が非常に高い。

DNAオリゴヌクレオチド中に2',4'-BNA^{NC}ユニットを1個導入する毎に（1修飾当たり）T_m値が3～6℃上昇する。しかも、相補なDNA鎖に対する二重鎖形成能の上昇（向上）はほとんどない。この特性は、相補なRNA鎖に対する結合親和性においては2',4'-BNA修飾DNAオリゴヌクレオチド同様、飛躍的なT_m値の上昇（二重鎖形成能の格段の向上）がある一方で、相補なDNA鎖に対する二重鎖形成能においては2',4'-BNA修飾DNAオリゴヌクレオチドでは未修飾DNAオリゴヌクレオチドと比べて向上が観察される（1修飾当たり1h値が2～4℃上昇）のとは対照的に、2',4'-BNA^{NC}修飾DNAオリゴヌクレオチドでは殆ど結合親和性の向上は認められない。従って、本2',4'-BNA^{NC}修飾DNAオリゴヌクレオチドはRNA鎖への選択的結合親和性に極めて優れている。

【0010】

（2）また、2',4'-BNA^{NC}修飾DNAオリゴヌクレオチドは二本鎖DNA鎖に対する三重鎖形成能にも卓越している。

【0011】

（3）ヌクレアーゼ耐性が抜群である。

2',4'-BNA^{NC}修飾オリゴヌクレオチドは天然DNAオリゴヌクレオチドよりもヌクレアーゼ耐性が高いが、S-オリゴ（ホスホロチオアト型オリゴヌクレオチド）よりはるかに低い。本発明の2',4'-BNA^{NC}修飾オリゴヌクレオチドは2',4'-BNA修飾オリゴヌクレオチドはもとより、ヌクレアーゼ耐性の優れていることで高く評価されているS-オリゴよりもヌクレアーゼ耐性に優れており、生体内での分解が強く抵抗する特性を有している。

【0012】

（4）本発明の人工核酸2',4'-BNA^{NC}分子中に含まれるN-O結合は還元試薬により緩やかな条件下で選択的に開裂することができ、NH基とOH基が遊離する。このNH基やOH基を足掛かりに別機能性分子を結合させることで、オリゴヌクレオチド類縁体調製の前後を問わず、様々な複合体（コンジュゲート体）を得ることが容易である。別機能性分子としては、蛍光分子や化学発光分子や放射性同位原子を含む分子種などの標識用分子、様々なDNA（RNA）切断活性分子、細胞内や核内移行シグナルペプチド類等々、が可能である。

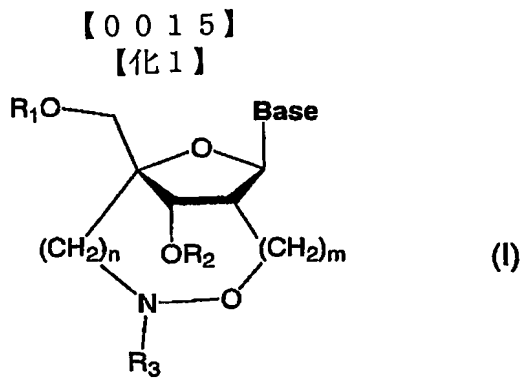
【0013】

以上、本発明の2',4'-BNA^{NC}を様々な形態で修飾したDNAやRNAオリゴヌクレオチド類縁体は、アンチセンス法、アンチジーン法、デコイ法、遺伝子相同組み換え法、RNA干渉法などによる遺伝子医薬品創製の高機能性素材としてのみならず、モレキュラービーコンやDNAチップなどの遺伝子診断法の基材として、また、遺伝子機能解析解明等の研究用試薬の開発素材として、極めて有用性の高いものである。

【発明の実施の形態】

【0014】

本発明のヌクレオシド類縁体は、下記一般式（I）で表される化合物及びその塩。

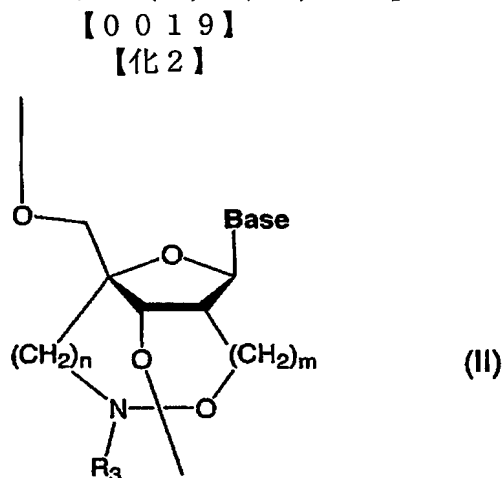


【0016】
(式中、Baseは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R₁、R₂は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシル基、スルホニル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、または、-P(R₄)R₅ [式中、R₄及びR₅は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す。]を示す。

【0017】
R₃は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシル基、スルホニル基、及び機能性分子ユニット置換基を示す。
mは、0～2の整数、及びnは、1～3の整数である。)

【0018】
本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、下記一般式(II)で表されるヌクレオシド類縁体の単位構造のいずれか1種以上を1または2個以上含有するDNAオリゴヌクレオチド又はRNAオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩である。但し、これら構造の1種以上を2個以上含有する場合は、当該構造間でBaseは同一または異なっても良い。また、オリゴヌクレオチド類縁体中の各ヌクレオシド間の結合は、天然核酸と同じリン酸ジエステル結合[-OP(O₂⁻)O-]以外にホスホロチオアート結合[-OP(O)(S⁻)O-]を1又は2個以上含有していても良い。



【0020】
(式中、Base、R₁、R₂、R₃、m、nは、前に定義した通りである。)
一般式(I)及び(II)中、Baseの芳香族複素環基とは、炭化水素環の構成原子

である炭素原子を、1個以上の窒素原子、硫黄原子もしくは酸素原子などのヘテロ原子に置き換えた構造を有し、芳香族性を示す5～20員環のあらゆる基をいい、単環、縮合環を含む。具体的には、例えば、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基、以下の α 群から選択される置換基を1つ以上有していてもよいピリミジンもしくはプリン核酸塩基が挙げられる。ここで、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基には、核酸の構成成分として一般に知られる塩基（例えば、グアニン、アデニン、シトシン、チミン、ウラシル）、及びその他これらに類する核酸成分の塩基として作用もしくは代用し得るあらゆる化学構造が含まれる。その他、チオフエン、チアントレン、フラン、ピラン、イソベンゾフラン、クロメン、キサンテン、フェノキサチン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソキサゾール、ピリダジン、インドリジン、インドール、イソインドール、イソキノリン、キノリン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、プテリジン、カルバゾール、フェナントリジン、アクリジン、ペリミジン、フェナジン、フェナルサジン、フェノチアジン、フラザン、フェノキサジン、ピロリジン、ピロリン、イミダゾリジン、イミダゾリン、ピラゾリジンなども含まれる。好適には、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基、以下の α 群から選択される置換基を1つ以上有していてもよいピリミジンもしくはプリン核酸塩基であり、具体的には、プリン-9-イル基、2-オキソ-ピリミジン-1-イル基、または下記 α 群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは2-オキソ-ピリミジン-1-イル基が好適である。

【0021】

α 群：水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数1～5のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数1～5のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基、および、ハロゲン原子。

ここで、「置換基を有していてもよいプリン核酸塩基」として好適な基は、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-2-イル又は6-メルカプトプリン-9-イル基であり、さらに好適には、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル又はグアニル基である。

【0022】

また、「置換基を有していてもよいピリミジン核酸塩基」として好適な基は、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、ウラシル）、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、チミニル）または4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、5-メチルシトニル）基であり、さらに好適には

、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、チミニル、ウラシニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、又は5-メチルシトシニル基である。

【0023】

「置換基を有していてもよいプリンもしくはピリミジン核酸塩基」の中で、さらに好適には、6-アミノプリン-9-イル(即ち、アデニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル(即ち、グアニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、シトシニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチルシトシニル)、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである。

【0024】

一般式(I)及び(II)中、Baseの芳香族炭化水素環基とは、炭素数6~20の芳香族性を示す炭化水素環から水素原子1個を除いた1価の置換基を意味し、単環、縮合環を含む。具体的には、例えば、フェニル、インデニル、ナフチル、ペンタレニル、アズレニル、ヘプタレニル、ピフェニレニル、インダセニル、フルオレニル、フェナントリル、アントリルなどが挙げられるが、その他本発明の目的において核酸成分の塩基部分として代用可能なあらゆる構造が含まれる。また、芳香族炭化水素環が、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、ハロゲン原子、低級アルキル基、アルコキシ基、カルボキシ基、アリールオキシ基、ニトロ基、トリフルオロメチル、フェニル基等の1種以上の基によって置換されていてもよく、そのような置換されていてもよい芳香族炭化水素基としては、例えば、4-ヒドロキシフェニル、2-ヒドロキシフェニル、4-アミノフェニル、2-アミノフェニル、2-メチルフェニル、2, 6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2, 4-ジクロロフェニル、2, 5-ジクロロフェニル、2-プロモフェニル、4-メトキシフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニル、4-ニトロフェニル、2, 4-ジニトロフェニル、ピフェニルなどが挙げられる。置換されていてもよい芳香族炭化水素環基としては、好適には、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、低級アルコキシ基もしくはニトロ基で置換されたフェニル基、フェニル基などが挙げられる。

【0025】

一般式(I)または(II)中、R₁、R₂の「核酸合成の水酸基の保護基」、R₄、R₅

、及び α 群の「核酸合成の保護基で保護された水酸基」の保護基とは、核酸合成の際に安定して水酸基を保護し得るものであれば、特に制限はないが、具体的には、酸性又は中性条件下で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基のことをいい、そのような保護基としては、例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、3-メチルノナノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、1-メチルペンタデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、ヘプタデカノイル、15-メチルヘキサデカノイル、オクタデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナICOSAノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基のような「脂肪族アシル基」；メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、n-ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチルのような「低級アルキル基」；エチニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-メチル-1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-エチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-ペンテニル、1-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのような「低級アルケニル基」；ベンゾイル、 α -ナフトイル、 β -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-プロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基のような「芳香族アシル基」；テトラヒドロピラン-2-イル、3-プロモテトラヒドロピラン-2-イル、4-メトキシテトラヒドロピラン-4-イル、テトラヒドロチオピラン-4-イル、4-メトキシテトラヒドロチオピラン-4-イルの「テトラヒドロピラニル又はテトラヒドロチオピラニル基」；テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロチオフラン-2-イルのような「テトラヒドロフラニル又はテトラヒドロチオフラニル基」；トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジtert-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのようなトリ低級アルキルシリル基、ジフェニルメチルシリル、ジフェニルブチルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような1~2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基のような「シリル基」；メトキシメチル、1, 1-ジメチル-1-メトキシメチル、

エトキシメチル、プロポキシメチル、イソプロポキシメチル、ブトキシメチル、*t*-ブトキシメチルのような「低級アルコキシメチル基」；2-メトキシエトキシメチルのような「低級アルコキシ化低級アルコキシメチル基」；2, 2, 2-トリクロロエトキシメチル、ビス(2-クロロエトキシ)メチルのような「ハロゲン低級アルコキシメチル基」；1-エトキシエチル、1-(イソプロポキシ)エチルのような「低級アルコキシ化エチル基」；2, 2, 2-トリクロロエチルのような「ハロゲン化エチル基」；ベンジル、 α -ナフチルメチル、 β -ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 α -ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1~3個のアリール基で置換されたメチル基」；4-メチルベンジル、2, 4, 6-トリメチルベンジル、3, 4, 5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-プロモベンジル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1~3個のアリール基で置換されたメチル基」；メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、*t*-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；4-クロロフェニル、2-フロロフェニル、4-メトキシフェニル、4-ニトロフェニル、2, 4-ジニトロフェニルのような「ハロゲン原子、低級アルコキシ基又はニトロ基で置換されたアリール基」；2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；ビニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、3, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような1~2個の「低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」を挙げることができる。

【0026】

R₁およびR₂の「核酸合成の水酸基の保護基」においては、好適には、「脂肪族アシル基」、「芳香族アシル基」、「1~3個のアリール基で置換されたメチル基」、「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1~3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「シリル基」であり、さらに好適には、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、*p*-メトキシベンゾイル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基又は*tert*-ブチルジフェニルシリル基であり、R₄、R₅、R₆、R₇又は α 群の「核酸合成の保護基で保護された水酸基」の保護基においては、好適には、「脂肪族アシル基」、「芳香族アシル基」、「1~3個のアリール基で置換されたメチル基」、「ハロゲン原子、低級アルコキシ基又はニトロ基で置換されたアリール基」、「低級アルキル基」又は「低級アルケニル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基、ベンジル基、2-クロロフェニル基、4-クロロフェニル基又は2-プロペニル基である。

一般式(I)または(II)中、R₁、R₂およびR₃の「アルキル基」とは、炭素数1~20の直鎖または分岐鎖状のアルキル基を示し、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*s*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、*n*-ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチルのような炭素数1~6の直鎖または分岐鎖状のアルキル基(本明細書においては、これらを低級アルキル基とも称す。)の他、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシルなど炭素数7~20の直鎖または分岐鎖状のアルキル基が含まれ、好適には、上記の炭素数1~6の直鎖または分岐鎖状のアルキル基である。

【0027】

一般式(I)または(II)中、R₁、R₂およびR₃の「アルケニル基」とは、炭素数

2～20の直鎖または分岐鎖状のアルケニル基を示し、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-メチル-1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-エチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-ペンテニル、1-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのような炭素数2～6の直鎖または分岐鎖状のアルケニル基（本明細書においては、これらを低級アルケニル基とも称す。）の他、ゲラニル、ファルネシルなどが含まれ、好適には、上記の炭素数2～6の直鎖または分岐鎖状のアルケニル基である。

【0028】

一般式(I)または(II)中、 R_1 、 R_2 および R_3 の「シクロアルキル基」とは、炭素数3～10のシクロアルキル基を示し、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ノルボルニル、アダマンチルなどが挙げられ、好適には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチルなどの炭素数3～8のシクロアルキル基である。また、「シクロアルキル基」には、上記シクロアルキル基の環上の1つ以上のメチレンが酸素原子や硫黄原子、あるいはアルキル基で置換された窒素原子に置換された複素環基も含まれ、例えば、テトラヒドロピラニル基などが挙げられる。

【0029】

一般式(I)または(II)中、 R_1 、 R_2 および R_3 の「アリール基」とは、芳香族炭化水素基から水素原子1個を除いた炭素数6～14の1価の置換基を意味し、例えば、フェニル、インデニル、ナフチル、フェナンスレニル、アントラセニルなどが挙げられる。また、アリール環が、ハロゲン原子、低級アルキル基、水酸基、アルコキシ基、アリールオキシ基、アミノ基、ニトロ基、トリフルオロメチル、フェニル基等の1種以上の基によって置換されていてもよく、そのような置換されていてもよいアリール基としては、例えば、2-メチルフェニル、2, 6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2, 4-ジクロロフェニル、2, 5-ジクロロフェニル、2-プロモフェニル、4-メトキシフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニル、4-ニトロフェニル、2, 4-ジニトロフェニル、ピフェニルなどが挙げられる。好適には、ハロゲン原子、低級アルコキシ基ニトロ基で置換されたフェニル基、フェニル基などが挙げられる。

【0030】

一般式(I)または(II)中、 R_1 、 R_2 および R_3 の「アラルキル基」とは、アリール基で置換された炭素数1～6のアルキル基を意味し、ベンジル、 α -ナフチルメチル、 β -ナフチルメチル、インデニルメチル、フェナンスレニルメチル、アントラセニルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 α -ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1～3個のアリール基で置換されたメチル基」や、4-メチルベンジル、2, 4, 6-トリメチルベンジル、3, 4, 5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-プロモベンジル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基」の他、1-フェネチル、2-フェネチル、1-ナフチルエチル、2-ナフチルエチル、1-フェニルプロピル、2-フェニルプロピル、3-フェニルプロピル、1-ナフチルプロピル、2-ナフチルプロピル、3-ナフチルプロピル、1-フェニルブチル、2-フェニルブチル、3-フェニルブチル、4-フェニルブチル、1-ナフチルブチル、2-ナフチルブチル、3-ナフチルブチル、4-ナフチルブチル、1-フェニルペンチル、2-フェニルペ

ンチル、3-フェニルペンチル、4-フェニルペンチル、5-フェニルペンチル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、1-フェニルヘキシル、2-フェニルヘキシル、3-フェニルヘキシル、4-フェニルヘキシル、5-フェニルヘキシル、6-フェニルヘキシル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、6-ナフチルペンチル、などの「アリール基で置換された炭素数3~6のアルキル基」などが含まれる。好適には、「1~3個のアリール基で置換されたメチル基」、「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1~3個のアリール基で置換されたメチル基」であり、さらに好適には、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチルである。

【0031】

一般式 (I) または (II) 中、 R_1 、 R_2 および R_3 の「アシル基」としては、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、3-メチルノナノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、1-メチルペンタデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、ヘプタデカノイル、15-メチルヘキサデカノイル、オクタデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲン低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基のような「脂肪族アシル基」、およびベンゾイル、 α -ナフトイル、 β -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲンアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基のような「芳香族アシル基」が挙げられ、好適には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、ベンゾイル基である。

【0032】

一般式 (I) または (II) 中、 R_1 、 R_2 および R_3 の「スルホニル基」としては、メタンスルホニル、エタンスルホニルのように炭素数が1~6の直鎖あるいは分岐アルキル基が置換したスルホニル基のような「脂肪族スルホニル基」、ベンゼンスルホニル、p-トルエンスルホニルのような各種アリール基が置換したスルホニル基のような「芳香族スルホニル基」が挙げられ、好適にはメタンスルホニル、p-トルエンスルホニル基である。

【0033】

一般式 (I) または (II) 中、 R_1 、 R_2 および R_3 の「シリル基」としては、トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジ-t-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのような「トリ低級アルキルシリル基」、ジフェニルメチルシリル、ブチルジフェニルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような「1~2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基」などが挙げられ、好適には、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリルであり、さらに好適にはトリメチルシリルであ

る。

【0034】

一般式 (I) または (II) 中、 R_1 および R_2 の「核酸合成の保護基で保護されたリン酸基」の「保護基」とは、核酸合成の際に安定してリン酸基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基のことをいい、そのような保護基としては、例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチル、イソブチル、 s -ブチル、 $tert$ -ブチル、 n -ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、 n -ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチルのような「低級アルキル基」；2-シアノエチル、2-シアノー1, 1-ジメチルエチルのような「シアノ化低級アルキル基」；2-メチルジフェニルシリルエチル、2-トリメチルシリルエチル、2-トリフェニルシリルエチルのような「シリル基で置換されたエチル基」；2, 2, 2-トリクロロエチル、2, 2, 2-トリブromoエチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、2, 2, 2-トリクロロ-1, 1-ジメチルエチルのような「ハロゲン化低級アルキル基」；エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-エチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-ペンテニル、1-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのような「低級アルケニル基」；シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、ノルボルニル、アダマンチルのような「シクロアルキル基」；2-シアノブテニルのような「シアノ化低級アルケニル基」；ベンジル、 α -ナフチルメチル、 β -ナフチルメチル、インデニルメチル、フェナンスレニルメチル、アントラセニルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、1-フェネチル、2-フェネチル、1-ナフチルエチル、2-ナフチルエチル、1-フェニルプロピル、2-フェニルプロピル、3-フェニルプロピル、1-ナフチルプロピル、2-ナフチルプロピル、3-ナフチルプロピル、1-フェニルブチル、2-フェニルブチル、3-フェニルブチル、4-フェニルブチル、1-ナフチルブチル、2-ナフチルブチル、3-ナフチルブチル、4-ナフチルブチル、1-フェニルペンチル、2-フェニルペンチル、3-フェニルペンチル、4-フェニルペンチル、5-フェニルペンチル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、1-フェニルヘキシル、2-フェニルヘキシル、3-フェニルヘキシル、4-フェニルヘキシル、5-フェニルヘキシル、6-フェニルヘキシル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、6-ナフチルペンチルのような「アラルキル基」；4-クロロベンジル、2-(4-ニトロフェニル)エチル、 o -ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、2, 4-ジニトロベンジル、4-クロロ-2-ニトロベンジルのような「ニトロ基、ハロゲン原子でアリール環が置換されたアラルキル基」；フェニル、インデニル、ナフチル、フェナンスレニル、アントラセニルのような「アリール基」；2-メチルフェニル、2, 6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2, 4-ジクロロフェニル、2, 5-ジクロロフェニル、2-ブromoフェニル、4-ニトロフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニルのような「低級アルキル基、ハロゲン原始、ニトロ基で置換されたアリール基」を挙げることができ、好適には「低級アルキル基」、「シアノ基で置換された低級アルキル基」、「アラルキ

ル基」、「ニトロ基、ハロゲン原子でアリール環が置換されたアラルキル基」または「低級アルキル基、ハロゲン原子、ニトロ基で置換されたアリール基」であり、さらに好適には、2-シアノエチル基、2, 2, 2-トリクロロエチル基、ベンジル基、2-クロロフェニル基または4-クロロフェニル基である。

【0035】

一般式(I)または(II)中、 R_3 の「機能性分子ユニット置換基」とは、標識分子(例えば、蛍光分子、化学発光分子、放射性同位原子を含む分子種等)、DNAやRNA切断活性分子、細胞内や核内移行シグナルペプチド等を含む。

【0036】

一般式(I)または(II)中、 R_4 及び R_5 並びに α 群の「核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基」の保護基としては、核酸合成の際に安定してメルカプト基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基をいい、例えば、上記水酸基の保護基として挙げたものの他、メチルチオ、エチルチオ、tert-ブチルチオのようなアルキルチオ基、ベンジルチオのようなアリールチオ基等の「ジスルフィドを形成する基」を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基、ベンジル基である。

【0037】

一般式(I)または(II)中、 R_4 、 R_5 、及び α 群の「炭素数1~5のアルコキシ基」としては、例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、s-ブトキシ、tert-ブトキシ、n-ペントキシを挙げることができ、好適には、メトキシ又はエトキシ基である。

【0038】

一般式(I)または(II)中、 R_4 、 R_5 、及び α 群の「炭素数1~5のアルキルチオ基」としては、例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオ、ブチルチオ、イソブチルチオ、s-ブチルチオ、tert-ブチルチオ、n-ペンチルチオを挙げることができ、好適には、メチルチオ又はエチルチオ基である。

【0039】

一般式(I)または(II)中、 R_4 、 R_5 、の「炭素数1~6のシアノアルコキシ基」とは、上記「炭素数1~5のアルコキシ基」のシアノ基が置換した基をいい、そのような基としては、例えば、シアノメトキシ、2-シアノエトキシ、3-シアノプロポキシ、4-シアノブトキシ、3-シアノ-2-メチルプロポキシ、又は1-シアノメチル-1, 1-ジメチルメトキシを挙げることができ、好適には、2-シアノエトキシ基である。

【0040】

一般式(I)または(II)中、 R_4 、 R_5 、及び α 群の「炭素数1~5のアルキル基で置換されたアミノ基」としては、例えば、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、ブチルアミノ、イソブチルアミノ、s-ブチルアミノ、tert-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、ジイソプロピルアミノ、ジブチルアミノ、ジイソブチルアミノ、ジ(s-ブチル)アミノ、ジ(tert-ブチル)アミノを挙げることができ、好適には、メチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノまたはジイソプロピルアミノ基である。

【0041】

α 群の「炭素数1~5のアルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、イソブチル、ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチルなどを挙げることができ、好適には、メチル又はエチル基である。

【0042】

α 群の「ハロゲン原子」としては、例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子を挙げることができ、好適には、フッ素原子又は塩素原子である。

「ホスホロアミダイト基」とは、式-P(OR_{1a})(NR_{1b})で表される基(式中、R_{1a}は炭素数1~のアルキル基又は炭素数1~7のシアノアルキル基を示し、R_{1b}は炭素数

1～6のアルキル基を示す。)を意味し、好適には、式-P(OC₂H₄CN)(N(i?Pr)₂)で表される基又は式-P(OC₂H₄CN)(N(i?Pr)₂)で表される基である。

【0043】

α群の「核酸合成の保護基で保護されたアミノ基」の保護基としては、核酸合成の際に安定してアミノ基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基をいい、例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、3-メチルノナノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3,7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、1-メチルペンタデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13,13-ジメチルテトラデカノイル、ヘプタデカノイル、15-メチルヘキサデカノイル、オクタデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイクサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲン低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；ベンゾイル、α-ナフトイル、β-ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-プロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲンアリールカルボニル基、2,4,6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」；メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、n-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；ビニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような1～2個の「低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアルキルオキシカルボニル基」を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基である。

【0044】

「ヌクレオシド類縁体」とは、プリン又はピリミジン塩基と糖が結合した「ヌクレオシド」のうち非天然型のもの、並びに、プリン及びピリミジン以外の芳香族複素環及び芳香族炭化水素環でプリン又はピリミジン塩基との代用が可能なものと糖が結合したもののいう。

【0045】

「オリゴヌクレオチド類縁体」とは、同一又は異なる「ヌクレオシド」又は「ヌクレオシド類縁体」がリン酸ジエステル結合で2～50個結合した「オリゴヌクレオチド」の非天然型誘導体をいい、そのような類縁体としては、好適には、糖部分が修飾された糖誘導体；リン酸ジエステル部分がチオエート化されたチオアート誘導体；末端のリン酸部分がエステル化されたエステル体；プリン塩基上のアミノ基がアミド化されたアミド体を挙げることができ、さらに好適には、糖部分が修飾された糖誘導体を挙げることができる。

【0046】

「その塩」とは、本発明の化合物(1)は、塩にすることができるので、その塩をいい、そのような塩としては、好適にはナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩、*t*-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、*N*-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、*N*、*N'*-ジベンジリエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、*N*-ベンジル-フェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等のアミン塩；フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩のようなハロゲン原子化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、*p*-トルエンスルホン酸塩のようなアリースルホン酸塩、酢酸塩、リンゴ酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができる。

【0047】

「その薬理学上許容される塩」とは、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は塩にすることができるので、その塩をいい、そのような塩としては、好適にはナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩、*t*-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、*N*-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、*N*、*N'*-ジベンジリエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、*N*-ベンジル-フェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等のアミン塩；フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩のようなハロゲン原子化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、*p*-トルエンスルホン酸塩のようなアリースルホン酸塩、酢酸塩、リンゴ酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができる。

【0048】

本発明の化合物(I)及びその塩のうち、好適な化合物としては、

(1) R_1 が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、脂肪族あるいは芳香族スルホニル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、またはシリル基である化合物及びその塩、

(2) R_1 が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、メタンスルホニル基、*p*-トルエンスルホニル基、ベンジル基、*p*-メトキシベンジル基、トリチル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基又は*tert*-ブチルジフェニルシリル基である化合物及びその塩、

(3) R_2 が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、脂肪族あるいは芳香族スルホニル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換され

たメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基または核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である化合物及びその塩、

(4) R_2 が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、メタンスルホニル基、p-トルエンスルホニル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、tert-ブチルジフェニルシリル基、 $-P(OC_2H_4CN)(N(iPr)_2)$ 、 $-P(OCH_3)(N(iPr)_2)$ 、ホスホニル基、又は、2-クロロフェニルもしくは4-クロロフェニルリン酸基である化合物およびその塩、

(5) R_3 が、水素原子、炭素数1~5のアルキル基、炭素数1~5のアルケニル基、炭素数6~14のアリール基、1~3個のアリール基で置換されたメチル基、メタンスルホニル基やp-トルエンスルホニル基などの低級脂肪族あるいは芳香族スルホニル基又はアセチル基などの炭素数1~5の脂肪族アシル基やベンゾイル基などの芳香族アシル基である化合物およびその塩、また、 R_3 の機能性分子ユニット置換基が、蛍光あるいは化学発光標識分子、核酸切断活性官能基、又は細胞内若しくは核内移行シグナルペプチドである請求項1~6のいずれか1項に記載の化合物及びその塩、

(6) Baseが、6-アミノプリン-9-イル(即ち、アデニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル(即ち、グアニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、シトシル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、ウラシル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチルシトシル)基、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである化合物及びその塩、

(7) Baseが、ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシル、2-オキソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、5-メチルシトシル、ウラシル又はチミル基である化合物及びその塩を挙げることができる。

【0049】

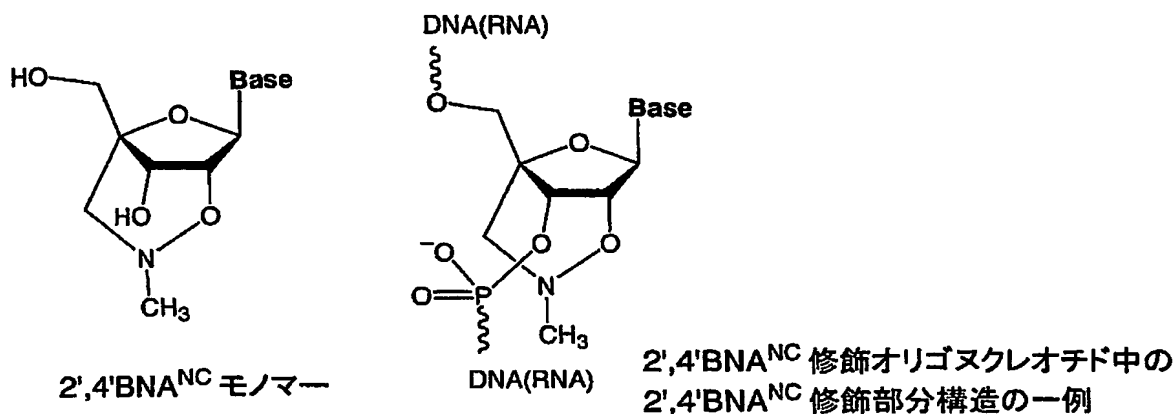
また、上記(1)~(2)、(3)~(4)または(6)~(7)は、番号が大きくなるに従って、より好適な化合物を示し、一般式(1)において、 R_1 を(1)~(2)から任意に選択し、 R_2 を(3)~(4)から任意に選択し、 R_3 を(5)から任意に選択し、Baseを(6)~(7)から任意に選択し、また、これらを任意に組み合わせて得られた化合物及びその塩も好適であり、特に好適な組合せは、(2)-(3)-(5)-(6)、(2)-(3)-(5)-(7)、(2)-(4)-(5)-(6)及び(2)-(4)-(5)-(7)である。

【0050】

一般式 (I) で表される化合物及びその塩で、特に好適には、下記の式で表される化合物及びその塩である。

【0051】

【化3】



【0052】

上記群の構造式中、Baseは前述と同じ意味を表す。

本発明の一般式 (I I) で表されるヌクレオシド類縁体の単位構造を1または2個以上含有するオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩のうち、好適なものとしては、

(8) R₃が、水素原子、炭素数1~5のアルキル基、ベンジル基などのアラルキル基、アセチル基やベンゾイル基などの低級脂肪族あるいは芳香族アシル基、メタンスルホニル基やp-トルエンスルホニル基などの脂肪族あるいは芳香族スルホニル基であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩、

(9) Baseが、6-アミノプリン-9-イル (即ち、アデニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル (即ち、グアニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、シトシニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル (即ち、5-メチルシトシニル) 基、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルであるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理

学上許容される塩、

(10) Baseが、ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチリルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、2-オキソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、5-メチルシトシニル、ウラシニル又はチミニル基であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩を挙げることができる。

【0053】

また、(9)～(10)は、番号が大きくなるに従って、より好適なオリゴヌクレオチド類縁体を示し、R₃を(8)から任意に選択し、Baseを(9)～(10)から任意に選択し、これらを任意に組合せて得られたオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩も好適である。一般式(II)における特に好適な組合せは、(8)-(9)、(8)-(10)である。

【0054】

本発明のヌクレオシド類縁体及びオリゴヌクレオチド類縁体は、実施例に記載の方法および本分野の従来技術に基づいて合成できる。

【0055】

(1) ヌクレオシド類縁体の合成

一般式(I)で表される化合物は、実施例に記載の方法および本分野の従来技術に基づいて合成できる。反応条件、保護基導入試薬、反応試薬は、具体的には実施例に記載の方法を参考にすることができるが、これに限定されず、本分野の技術常識に基づき使用可能な反応条件、試薬を適宜採用することができる。例えば、特開2000-297097号公報、特開平10-304889号公報に記載の方法を参考にすることができる。また、一般式(I)または(II)におけるBaseとして種々の天然、非天然の核酸塩基およびその他の芳香族複素環や芳香族炭化水素環を有する場合についても、特開平10-304889号公報に記載の方法を参考にして、本発明化合物の原料を合成することができる。

【0056】

(2) オリゴヌクレオチド類縁体の合成

本発明のヌクレオシド類縁体を含むオリゴヌクレオチド類縁体は、公知のDNAシンセサイザーを用いて種々合成することができる。次いで、得られるオリゴヌクレオチド類縁体を逆相カラムを用いて精製し、生成物の純度を逆相HPLCで分析することにより、精製オリゴヌクレオチド類縁体の生成を確認できる。本発明のヌクレオシド類縁体は、オリゴヌクレオチド類縁体の中に1個以上存在させることができる。また、オリゴヌクレオチド類縁体の2カ所以上の位置に、1又は2以上の天然ヌクレオチドを介して隔離された状態で存在させてもよい。本発明によれば、本発明のヌクレオシド類縁体を必要な位置に必要な数(長さ)で導入したオリゴヌクレオチド類縁体を合成することができる。オリゴヌクレオチド類縁体全体の長さとしてヌクレオチド単位が2～50、好ましくは8～30個である。

【0057】

本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、ヌクレアーゼに対して分解されにくく、生体への投与後、長く生体内に存在することができる。そして、例えば、センスRNAと二重鎖を形成して病因となる生体内成分(タンパク質)の形成してmRNAへの転写を阻害する。また、感染したウイルスの増殖を阻害すると考えられる。

【0058】

これらのことから、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤とはじめとした遺伝子の働きを阻害して疾病を治療する医薬品としての有用性が期待される。即ち、本発明によれば、安定で優れたアンチセンスもしくはアンチジーン活性、又は特定遺伝子の検出薬若しくは増幅開始の為のプライマーとして優れた活性を有する、オリゴヌクレオチド類縁体及びその製造中間体であるヌクレオシド類縁体が提供される。

【0059】

本発明のヌクレオシド類縁体の一つである2',4'-BNA^{NC}モノマーを様々な形態で修飾したDNAやRNAオリゴヌクレオチド類縁体（オリゴヌクレオチド類縁体）は、各種の生理・生物活性物質類、医薬品類の材料、RNA干渉法やアコイ法用などの二重鎖オリゴヌクレオチドの機能性材料、cDNAなど一本鎖核酸を標的とするDNAチップ、モレキュラービーコン（molecular beacon）などの機能性素材、様々なアンチセンス法（リボザイム、DNAザイムを含む）、アンチジーン法や遺伝子相同組み換え法用途への機能性素材、蛍光や発光物質との組合せによる生体微量成分の高感度分析用材料や遺伝子機能解析解明等の研究用試薬の開発素材として有用である。

【0060】

本発明のヌクレオシド類縁体やオリゴヌクレオチド類縁体は、例えば緩衝剤および／または安定剤等の慣用の助剤を配合して非経口投与用製剤とすることができる。また、局所用の製剤としては、慣用の医薬用担体を配合して軟膏、クリーム、液剤、または膏薬等に調剤できる。

【0061】

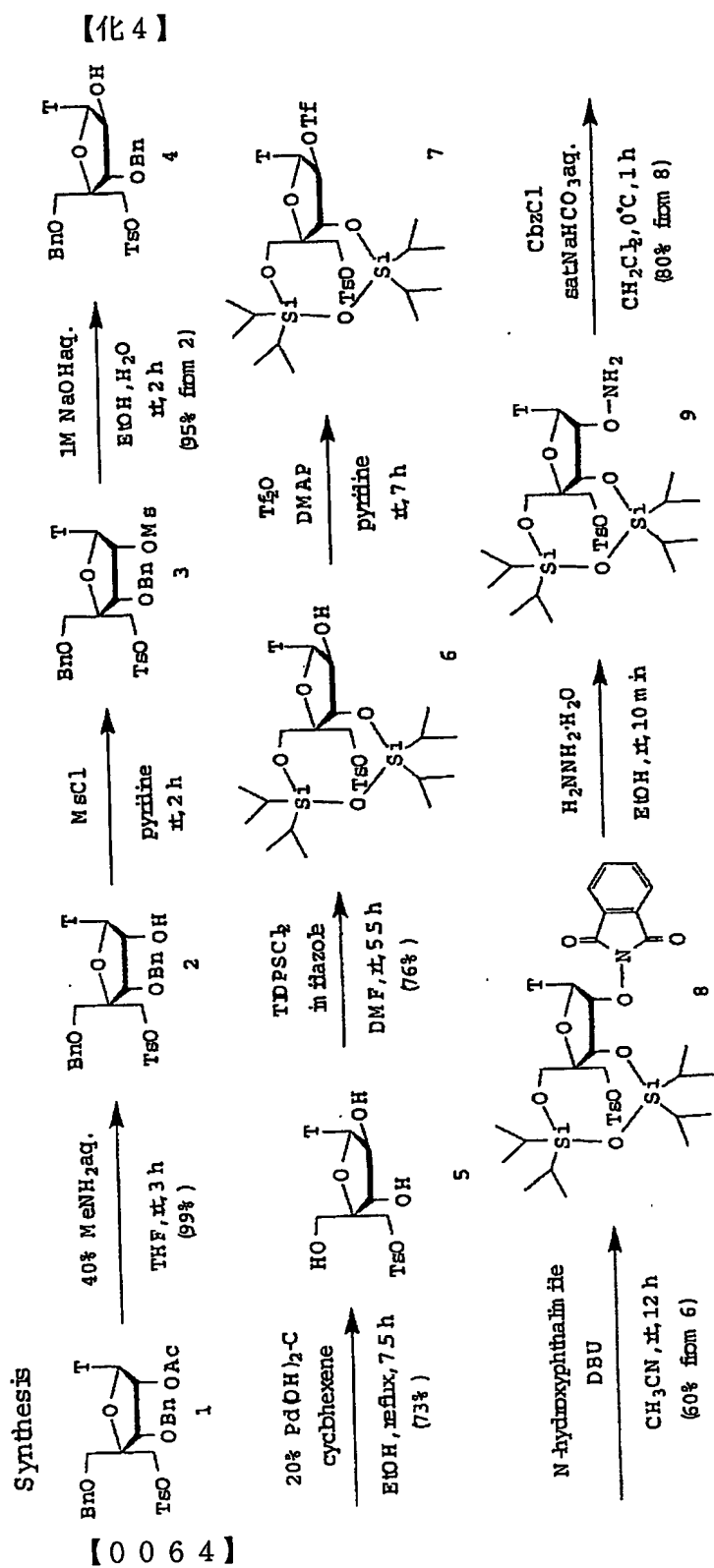
以下、本発明のヌクレオシド類縁体およびオリゴヌクレオチド類縁体を下記の合成スキームに従って合成した。これらの合成は実施例においてさらに詳しく説明する。

【実施例】**【0062】**

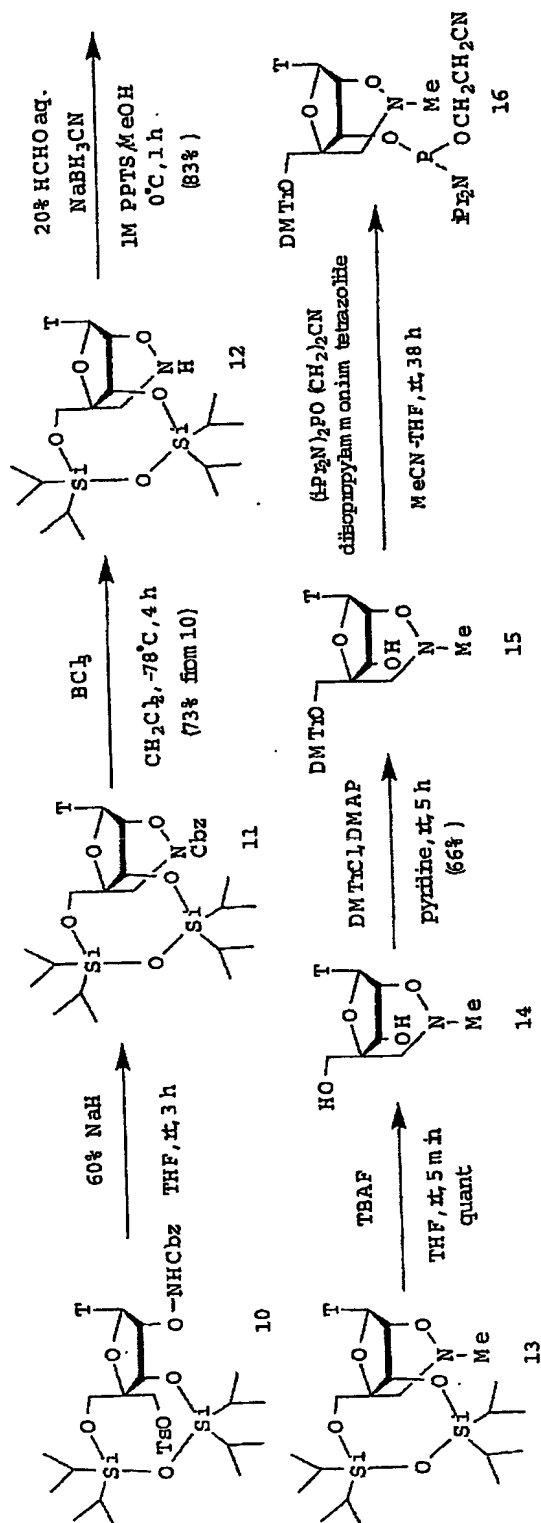
以下、本発明のヌクレオシド類縁体及びオリゴヌクレオチド類縁体を下記の合成スキームに従って、合成した。これらの合成は実施例において更に詳しく説明する。また、合成したオリゴヌクレオチド類縁体の特性を実験例によって測定した。

【0063】

Synthesis



【化5】



【0065】

(合成スキームをイメージ入力で取り込む)

【実施例1】ヌクレオシド類縁体 14 (2',4'-BNA^{NC}モノマー) の合成

(1) 化合物 2 の合成

前記の合成スキームに示す化合物 1 (49 mg, 0.073 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (3.5 ml) に氷冷下、40%メチルアミン水溶液 (57 (1, 0.730 mmol) を加え、1時間攪拌した。さらに、40%メチルアミン水溶液 (57 (1, 0.730 mmol) を加え、2時間攪拌し

た。反応溶液の溶媒を留去した後、酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（*n*-ヘキサン：酢酸エチル＝1：1）により精製し、化合物 2（45 mg, 99%）を白色固体として得た。

【0066】

【数1】

mp 64-66°C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.62 (3H, s), 2.43 (3H, s), 3.10 (1H, br), 3.63, 3.71 (2H, AB, *J* = 10 Hz), 4.18 (2H, s), 4.24 (1H, d, *J* = 6 Hz), 4.33 (1H, dd, *J* = 5, 6 Hz), 4.52 (1H, s), 4.60, 4.67 (2H, AB, *J* = 12 Hz), 5.68 (1H, d, *J* = 5 Hz), 7.23-7.37 (13H, m), 7.71 (2H, d, *J* = 8 Hz), 8.52 (1H, br).

【0067】

(2) 化合物 3 の合成

窒素気流下、化合物 2（136 mg, 0.22 mmol）のピリジン溶液（1.2 ml）に氷冷下、塩化メチルスルホニル（42 mg, 0.55 mmol）を加え、2時間攪拌した後、室温で2時間攪拌した。反応溶液に水を加え、ジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和重曹水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体 3（157 mg）を精製せず、次の反応に用いた。

【0068】

【数2】

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.65 (3H, s), 2.43 (3H, s), 3.07 (3H, s), 3.55, 3.81 (2H, AB, *J* = 10 Hz), 4.13, 4.22 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 4.41 (1H, d, *J* = 6 Hz), 4.48 (2H, s), 4.48, 4.78 (2H, AB, *J* = 12 Hz), 5.32 (1H, dd, *J* = 4, 6 Hz), 5.91 (1H, d, *J* = 4 Hz), 7.20-7.38 (13H, m), 7.72 (2H, d, *J* = 6 Hz).

【0069】

(3) 化合物 4 の合成

前反応で得られた粗成績体 3（157 mg）の水-エタノール溶液（1：2, 6.6 ml）に、室温で1M水酸化ナトリウム水溶液（0.65 ml, 0.65 mmol）を加え、2時間攪拌した。10%塩酸水溶液で中和後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝15：1）により精製し、化合物 4（129 mg, 95% from 2 in 2 steps）を白色固体として得た。

【0070】

【数3】

mp 73-76°C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.65 (3H, s), 2.38 (3H, s), 3.64, 3.70 (2H, AB, *J* = 9 Hz), 4.12 (1H, d, *J* = 2 Hz), 4.15, 4.21 (2H, AB, *J* = 10 Hz), 4.43, 4.64 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 4.49 (2H, s), 4.55 (1H, dd, *J* = 2, 4 Hz), 5.97 (1H, d, *J* = 4 Hz), 7.19-7.36 (13H, m), 7.73 (2H, d, *J* = 8 Hz), 9.72 (1H, br).

【0071】

(4) 化合物 5 の合成

窒素気流下、化合物 4（250 mg, 0.40 mmol）のエタノール溶液（10 ml）に、20%水酸化パラジウム-炭素粉末（125 mg）、シクロヘキセン（1.6 ml, 16.06 mmol）を加え、7.5時間加熱還流した。反応溶液を濾過した後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム）により精製し、化合物 5（93 mg, 73%）を白色固体として得た。

【0072】

【数 4】

mp 103-106°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.85 (3H, d, $J = 1$ Hz), 2.41 (3H, s), 3.67 (2H, s), 4.14, 4.25 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 4.16 (1H, dd, $J = 4, 5$ Hz), 4.21 (1H, d, $J = 4$ Hz), 5.87 (1H, d, $J = 5$ Hz), 7.38 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.48 (1H, d, $J = 1$ Hz), 7.79 (2H, d, $J = 8$ Hz).

【0073】

(5) 化合物 6 の合成

窒素気流下、化合物 5 (2.50 g, 7.80 mmol) の N,N -ジメチルホルムアミド溶液 (50 ml) に、1,3-ジクロロ-1,1,3,3-テトライソプロピルジシロキサン (2.75 ml, 8.58 mmol)、イミダゾール (2.34 g, 34.34 mmol) を加え、室温にて 5 時間攪拌した。反応液をエーテルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄した後、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n -ヘキサン:酢酸エチル = 1:2) により精製し、化合物 6 (4.08 g, 76%) を白色固体として得た。

【0074】

【数 5】

mp 97-99°C. IR ν_{max} (KBr): 3185, 3058, 2947, 2869, 1697, 1467, 1366, 1277, 1182, 1036, 1081, 1036 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.82-1.29 (28H, m), 1.86 (3H, s), 2.45 (3H, s), 3.73, 4.01 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 4.06, 4.29 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 4.47 (1H, d, $J = 7$ Hz), 4.52 (1H, dd, $J = 6, 7$ Hz), 5.98 (1H, d, $J = 6$ Hz), 7.28 (1H, s), 7.43 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.81 (2H, d, $J = 8$ Hz).

【0075】

(6) 化合物 7 の合成

窒素気流下、化合物 6 (300 mg, 0.44 mmol) のピリジン溶液 (4 ml) に氷冷下、無水トリフルオロメタンスルホン酸 (0.22 ml, 1.31 mmol)、4-(ジメチルアミノ)ピリジン (11 mg, 0.09 mmol) を加え、1 時間攪拌した後、室温で 4 時間攪拌した。さらに無水トリフルオロメタンスルホン酸 (0.04 ml, 0.22 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応溶液に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機層を飽和重曹水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体 7 (463 mg) を精製せず、次の反応に用いた。

【0076】

【数 6】

IR ν_{max} (KBr): 3178, 3069, 2948, 2874, 1695, 1465, 1424, 1365, 1281, 1214, 1143, 1088, 1038 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.81-1.26 (28H, m), 1.92 (3H, s), 2.46 (3H, s), 3.77, 4.16 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 4.15, 4.42 (2H, AB, $J = 10$ Hz), 5.42 (1H, d, $J = 7$ Hz), 5.45 (1H, d, $J = 7$ Hz), 6.89 (1H, s), 7.37 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.82 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.92 (1H, s).

【0077】

(7) 化合物 8 の合成

窒素気流下、前反応で得られた粗成績体 7 (463 mg) のアセトニトリル溶液 (4 ml) に、室温で N -ヒドロキシフタルイミド (100 mg, 0.61 mmol)、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン (92 (1, 0.61 mmol) を加え、室温で 12 時間攪拌した。反応溶液をジクロロメタンで抽出し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により精製し、化合物 8 (217 mg, 60% from 6 in 2 steps) を黄色固体として得た。

【0078】

【数 7】

mp 109-111°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.99-1.31 (28H, m), 1.87 (3H, s), 1.42 (3H, s), 3.88, 4.19 (2H, AB, $J = 13$ Hz), 4.41, 4.91 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 4.77 (1H, d, $J = 6$ Hz), 4.80 (1H, d, $J = 6$ Hz), 6.00 (1H, s), 7.32-7.37 (3H, m), 7.74-7.90 (6H, m).

【0079】

(8) 化合物 9 の合成

化合物 8 (138 mg, 0.17 mmol) のエタノール溶液 (4 ml) に、ヒドラジン-水和物 (14 (1, 0.28 mmol) を加え、室温で 10 分間攪拌した。反応溶液の溶媒を留去した後、濾過し、濾液を酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体 9 (128 mg) を精製せず、次の反応に用いた。

【0080】

【数 8】

mp 117-119°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.87-1.09 (28H, m), 1.92 (3H, d, $J = 1$ Hz), 2.45 (3H, s), 3.83, 3.91 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 4.22, 4.57 (2H, AB, $J = 16$ Hz), 4.41 (1H, dd, $J = 1, 7$ Hz), 4.80 (1H, d, $J = 7$ Hz), 5.35 (1H, d, $J = 1$ Hz), 5.81 (1H, br), 7.12 (1H, d, $J = 1$ Hz), 7.33 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.81 (2H, d, $J = 8$ Hz), 8.75 (1H, s).

【0081】

(9) 化合物 10 の合成

窒素気流下、前反応で得られた粗成績体 9 (128 mg) の塩化メチレン溶液 (2 ml) に氷冷下、飽和重曹水 (0.48 ml, 0.50 mmol)、クロロギ酸ベンジル (36 (1, 0.25 mmol) を加え、1 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n -ヘキサン: 酢酸エチル = 1 : 4) により精製し、化合物 10 (111 mg, 80% from 8 in 2 steps) を白色固体として得た。

【0082】

【数 9】

mp 82-84°C. IR ν_{max} (KBr): 3319, 3059, 2948, 2874, 1691, 1464, 1365, 1245, 1180, 1098, 1034 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.86 (28H, m), 1.87 (3H, s), 2.43 (3H, s), 3.80, 3.88 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 4.25, 4.53 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 4.72 (1H, d, $J = 6$ Hz), 5.02 (1H, d, $J = 6$ Hz), 5.15, 5.20 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 5.37 (1H, s), 7.31 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.34 (5H, s), 7.80 (2H, d, $J = 8$ Hz), 7.95 (1H, s), 8.48 (1H, s).

【0083】

(10) 化合物 11 の合成

窒素気流下、水素化ナトリウム (3 mg, 0.083 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (0.2 ml) に氷冷下、化合物 10 (23 mg, 0.028 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (0.8 ml) を滴下し、1 時間攪拌した後、室温で 2 時間攪拌した。飽和シュウ酸水溶液で中和後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体 11 (17 mg) を精製せず、次の反応に用いた。

【0084】

【数 10】

mp 61-64°C. IR ν_{max} (KBr): 3178, 3026, 2941, 2864, 1697, 1463, 1271, 1221, 1164, 1073 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.80-1.12 (28H, m), 1.92 (3H, s), 3.62, 3.85 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 3.68, 4.11 (2H, AB, $J = 13$ Hz), 4.11 (1H, d, $J = 4$ Hz), 4.55 (1H, d, $J = 4$ Hz), 5.21, 5.28 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 5.98 (1H, s), 7.30-7.44 (5H, m), 7.61 (1H, s), 8.80 (1H, br).

【0085】

(11) 化合物12の合成

窒素気流下、前反応で得られた粗成績体11 (17 mg) の塩化メチレン溶液 (1 ml) に-78℃で、1M三塩化ホウ素ヘキサン溶液 (0.13 ml, 0.13 mmol) を加え、2時間攪拌した後、1M三塩化ホウ素ヘキサン溶液 (0.13 ml, 0.13 mmol) を加え、1時間攪拌した後、氷冷下で1時間攪拌した。反応溶液にピリジン (0.2 ml)、メタノール (0.4 ml) を加えた後、溶媒を減圧留去した。残澄を酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により精製し、化合物12 (11 mg, 73% from 10 in 2 steps) を白色固体として得た。

【0086】

【数11】

mp 102-104℃. IR ν_{\max} (KBr): 4326, 3178, 3059, 2947, 2864, 1698, 1564, 1464, 1270, 1043 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.99-1.25 (28H, m), 1.93 (3H, s), 2.54, 3.68 (2H, AB, $J = 13$ Hz), 3.67, 4.06 (2H, AB, $J = 13$ Hz), 4.10 (1H, d, $J = 2$ Hz), 4.36 (1H, d, $J = 2$ Hz), 6.17 (1H, s), 7.73 (1H, s), 8.71 (1H, br).

【0087】

(12) 化合物13の合成

化合物12 (0.34 g, 0.65 mmol) の1M p-トルエンスルホンサンピリジニウム-メタノール溶液 (6.5 ml) に、室温にて20%ホルムアルデヒド水溶液 (0.11 ml, 0.72 mmol) を加え、10分間攪拌した。さらに、氷冷下シアン化水素化ホウ素ナトリウム (82 mg, 1.30 mmol) を加え、1時間攪拌した。反応溶液を酢酸エチルで抽出し、水、飽和重曹水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン: 酢酸エチル = 2: 1) にて精製し、化合物13 (0.29mg, 83%) を白色固体として得た。

【0088】

【数12】

IR ν_{\max} (KBr): 2947, 2868, 1695, 1464, 1267, 1163, 1038 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.94-1.12 (28H, m), 1.92 (3H, d, $J = 1$ Hz), 2.60, 2.91 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 2.76 (3H, s), 3.67, 4.08 (2H, AB, $J = 13$ Hz), 3.95 (1H, d, $J = 3$ Hz), 4.33 (1H, d, $J = 3$ Hz), 6.24 (1H, s), 7.73 (1H, d, $J = 1$ Hz), 8.56 (1H, br).

【0089】

(13) 化合物14 (2',4'-BNA^{NC}モノマー) の合成

化合物13 (50 mg, 0.092 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (2 ml) にフッ化テトラ-n-ブチルアンモニウム (1M inテトラヒドロフラン, 0.18 ml, 0.18 mmol) を加え、室温で5分間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル: メタノール = 10: 1) により精製し、化合物14 (28 mg, 100%) を白色固体として得た。

【0090】

【数13】

mp 101-103℃. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 1.85 (3H, d, $J = 1$ Hz), 2.71 (3H, s), 2.71, 2.88 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 3.69, 3.76 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 3.94 (1H, d, $J = 3$ Hz), 4.23 (1H, d, $J = 3$ Hz), 6.21 (1H, s), 7.99 (1H, d, $J = 1$ Hz).

【0091】

(14) 化合物15の合成

化合物14 (43 mg, 0.14 mmol) のピリジン溶液 (3 ml) に塩化4,4'-ジメトキシトリチル (58 mg, 0.17 mmol) と4,4'-ジメチルアミノピリジン (2 mg, 0.014 mmol) を加え、室温で5時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層

を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（*n*-ヘキサン：酢酸エチル＝1：2）にて精製し、化合物 15（57 mg, 66%）を白色固体として得た。

【0092】

【数14】

mp 133-134°C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.45 (3H, d, *J* = 1 Hz), 2.52 (1H, d, *J* = 9 Hz), 2.72 (3H, s), 2.77 (2H, s), 3.32, 3.37 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 3.79 (6H, s), 4.23 (1H, dd, *J* = 3, 9 Hz), 4.35 (1H, d, *J* = 3 Hz), 6.35 (1H, s), 6.84 (4H, d, *J* = 8 Hz), 7.22-7.46 (9H, m), 7.75 (1H, d, *J* = 1 Hz), 8.25 (1H, br).

【0093】

(15) 化合物 16 (2',4'-BNA^{NC}アミダイト) の合成

化合物 15 (51 mg, 0.085 mmol) 及びジイソプロピルアンモニウムテトラゾリド (17 mg, 0.085 mmol) のアセトニトリル-テトラヒドロフラン溶液 (3:1, 2.4 ml) に、2-シアノエチル-N,N,N',N'-テトライソプロピルホスホロアミダイト (32 (1), 0.102 mmol) を加え、室温で 14 時間攪拌した。さらにジイソプロピルアンモニウムテトラゾリド (17 mg, 0.085 mmol) 及び 2-シアノエチル-N,N,N',N'-テトライソプロピルホスホロアミダイト (32 (1), 0.102 mmol) を加え、室温で 24 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（*n*-ヘキサン：酢酸エチル＝1：1）により精製し、化合物 16 (31 mg, 46%) を白色固体として得た。

【0094】

【数15】

65-65°C. ³¹P-NMR (acetone-d₆) δ: 148.69, 149.82.

【0095】

[実施例 2] オリゴヌクレオチド類縁体の合成及び精製

(1) 2',4'-BNA^{NC} 修飾オリゴヌクレオチドの合成

化合物 14 (2',4'-BNA^{NC}モノマー) ユニットを含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、標準的なホスホロアミダイトプロトコールに従って、核酸自動合成機 Expedite[®] 8909 (ABI社製) により 0.2 mmol スケールで合成した。化合物 16 (2',4'-BNA^{NC}アミダイト) と 5'-末端の水酸基とのカップリング時間は、天然のヌクレオシドアミダイトでは 94 秒、2',4'-BNA^{NC}アミダイトでは 300 秒に設定した。

【0096】

5'-末端が DMTr 基保護され、固相支持された状態の 8 本の 2',4'-BNA^{NC} 修飾オリゴヌクレオチドに対し、それぞれ、28% アンモニア水によるカラムからの切り出し (1.5h) を行い、切り出したオリゴヌクレオチド類縁体を 28% アンモニア水中、16h、60°C で反応させ、すべての保護基の脱保護を行った。

【0097】

NAP-10 カラムによる簡易精製を行い、分画した各フラクションを UV 分析した。

UV 測定の結果をもとに、オリゴを含むフラクションを凍結乾燥した。合成されたオリゴヌクレオチド類縁体の純度は、逆相 HPLC (WakoPak^R WS-DNA column, 4.6 mm x 250 mm) により確認した (条件: 0.1M トリメチルアンモニウム酢酸バッファー (pH7.0) 中、1 ml/min. で 30 分の 8-16% アセトニトリルのグラディエント)。また、分子量は、MALDI-TOF-MASS 測定により決定した。

【0098】

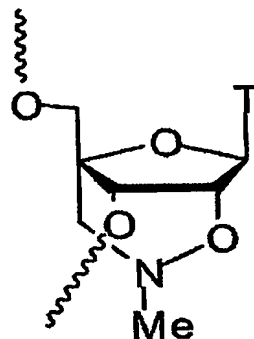
以下に合成したオリゴヌクレオチド類縁体 (1) ~ (8) を示す。

【0099】

【化6】

- ① 5'-GCGTTXTTGTGCT-3'
 ② 5'-GCGTTXTGTGCT-3'
 ③ 5'-GCGXTXTGTGCT-3'
 ④ 5'-GCGTTXXTGTGCT-3'
 ⑤ 5'-GCGXXXXXXGCT-3'
 ⑥ 5'-TTTT^mCTXT^mCT^mCT^mCT-3'
 ⑦ 5'-TTTTX^mCTXT^mCX^mCT^mCT-3'
 ⑧ 5'-TTTTTTTTXT-3'

X =



【0100】

得られた2',4'-BNA^{NC}修飾オリゴヌクレオチドの収量、収率を以下に示す。

【0101】

【表1】

oligonucleotide	収量 (nmol)	収率 (%)
① 5'-GCGTTXTTGTGCT-3'	94.91	47.5
② 5'-GCGTTXTGTGCT-3'	118.67	59.3
③ 5'-GCGXTXTGTGCT-3'	126.12	63.1
④ 5'-GCGTTXXTGTGCT-3'	66.94	33.5
⑤ 5'-GCGXXXXXXGCT-3'	99.40	49.7
⑥ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	72.44	36.2
⑦ 5'-TTTTX ^m CTXT ^m CX ^m CT ^m CT-3'	61.07	30.6
⑧ 5'-TTTTTTTTXT-3'	100.13	50.1

【0102】

更に、合成した2',4'-BNA^{NC}修飾オリゴヌクレオチドのMALDI-TOF MS測定結果を下記の表に示す。

【0103】

【表2】

oligonucleotide	Calcd.For (M-H) ⁻	Found (M-H) ⁻
① 5'-GCGTTXTTGTGCT-3'	3689.47	3688.52
② 5'-GCGTTXTGTGCT-3'	3746.52	3746.89
③ 5'-GCGXTXTGTGCT-3'	3803.57	3804.93
④ 5'-GCGTTXXTGTGCT-3'	3803.57	3803.18
⑤ 5'-GCGXXXXXXGCT-3'	3974.73	3975.31
⑥ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	4553.11	4552.67
⑦ 5'-TTTTX ^m CTXT ^m CX ^m CT ^m CT-3'	4667.21	4667.36
⑧ 5'-TTTTTTTTXT-3'	3036.06	3036.36

【0104】

[実験例1] 2',4'-BNA^{NC}修飾オリゴヌクレオチドの融解温度 (T_m) 測定 (二重鎖形成能評価)

実施例で合成したオリゴヌクレオチド類縁体 (1) ~ (5) (アンチセンス鎖) と天然DNAあるいはRNAオリゴヌクレオチドのセンス鎖とをアニーリング処理したものの

融解温度 (T_m) を測定することにより、アンチセンス鎖の二重鎖形成能を調べた。

【0105】

終濃度をそれぞれ、NaCl 150 mM、リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) 10 mM、アンチセンス鎖 2 μ M、センス鎖 2 μ M としたサンプル溶液 (500 μ L) を沸騰水中に浴し、10 時間かけて室温まで冷却した。分光光度計 (Shimadzu, UV-2100 PC) のセル室内に結露防止のために窒素気流を通し、サンプル溶液を 5℃ まで徐々に冷却し、さらに 20 分間 10℃ に保った後、測定を開始した。温度は 90℃ まで毎分 0.2℃ ずつ上昇させ、0.1℃ 間隔で 260 nm における紫外吸収を測定した。なお温度上昇により濃度が変化するのを防ぐため、セルは蓋付きのものを用い、サンプル溶液表面に鉱油を 1 滴添加し測定を行った。

【0106】

結果を表 3、表 4 に示す。

【0107】

【表 3】

DNA 鎖 (5'-TGCTTTTTTCGC-3') に対する二重鎖形成能 (T_m 値評価): °C

アンチセンス鎖	1 回目	2 回目	3 回目	4 回目	平均	$\Delta T_m/\text{mod.}$
5'-GCGTTTTTTGCT-3'	50.8	51.1			51	Natural
① 5'-GCGTTXTTGT-3'	49.3	49.0	48.9	-	49	-2
② 5'-GCGTTXTGT-3'	48.4	48.5	48.9	-	49	-1
③ 5'-GCGXTXTGT-3'	50.9	51.3	50.8	-	51	0
④ 5'-GCGTTXXTGT-3'	49.9	49.9	49.5	-	50	0
⑤ 5'-GCGXXXXXGCT-3'	61.4	61.0	61.4	-	61	+2

【0108】

【表 4】

RNA 鎖 (5'-UGCUUUUUUCGC-3') に対する二重鎖形成能 (T_m 値評価): °C

アンチセンス鎖	1 回目	2 回目	3 回目	4 回目	平均	$\Delta T_m/\text{mod.}$
5'-GCGTTTTTTGCT-3'	46.3	47.7			47	Natural
① 5'-GCGTTXTTGT-3'	50.4	49.9	49.9	-	50	+3
② 5'-GCGTTXTGT-3'	55.4	55.5	56.1	-	56	+5
③ 5'-GCGXTXTGT-3'	62.9	63.5	63.1	-	63	+5
④ 5'-GCGTTXXTGT-3'	58.9	59.4	59.3	-	59	+4
⑤ 5'-GCGXXXXXGCT-3'	79.9	80.0	79.9	-	80	+6

Conditions: 100 mM NaCl, 10 mM Na₂HPO₄ buffer (pH 7.2), each strand 4 μ M,

5°C to 90°C (0.5°C/min).

【0109】

以上より、本発明のヌクレオチド類縁体は、一本鎖 DNA (センス鎖) に対する二重鎖形成能に比較して一本鎖 RNA (センス鎖) に対する二重鎖形成能が格段と高く、アンチセンス法に適するものと考えられる。

【0110】

【実験例 2】 2',4'-BNA^{NC} 修飾オリゴヌクレオチドの T_m 測定 (三重鎖形成能評価)

実施例で合成したオリゴヌクレオチド類縁体 (オリゴヌクレオチド 6、7) について、実験例 1 と同様の方法により、下記の標的 2 本鎖 DNA との三重鎖形成能を調べた。

【0111】

結果および実験条件を表 5 に示す。

【0112】

【表 5】

三重鎖形成能 (T_m 値評価): °C

標的 2 本鎖 5'-GCTAAAAA GAGA GAGA GATCG-3'
 3'-CGATTTTT CTCT CTCT CTAGC-5'

⑥ 5'-TTTTT^mCTXT^mCT^mCT^mCT-3'

YZ	AT	TA	GC	CG
+MgCl ₂ (10 mM)	49.8(44)	14(17)	24(20)	22(25)
-MgCl ₂	38.4(33)		17°C以下	

⑦ 5'-TTTTX^mCTXT^mCX^mCT^mCT-3'

YZ	AT	TA	GC	CG
+MgCl ₂ (10 mM)	>55(44)			
-MgCl ₂	46.9(33)			

Conditions: 140 mM KCl, 7 mM Na₂HPO₄ buffer (pH 7.0), each strand 1.5 μM,

5°C to 90°C (0.5°C/min).

【0113】

表 5 に示すように、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体（オリゴヌクレオチド 6、7）には優れた三重鎖形成能が認められ、アンチージーン法などにも極めて有用であると考えられる。

【0114】

実験例 3：酵素耐性の測定

天然型（DNA オリゴヌクレオチド）及び非天然型の下記のオリゴヌクレオチドについて、オリゴヌクレオチドを 3' 側から分解するエキソヌクレアーゼに対する耐性を調べた。

【0115】

1) 10 mM MgCl₂ を含む 50 mM Tris-HCl バッファ (pH 8.0) 400 mL 中に、それぞれのオリゴヌクレオチド類と 3'-エキソヌクレアーゼの蛇毒ホスホジエステラーゼ (Boehringer Mannheim) がそれぞれ 25 mg/mL と 0.5 mg/mL になるように加えて 37°C に保つ。

【0116】

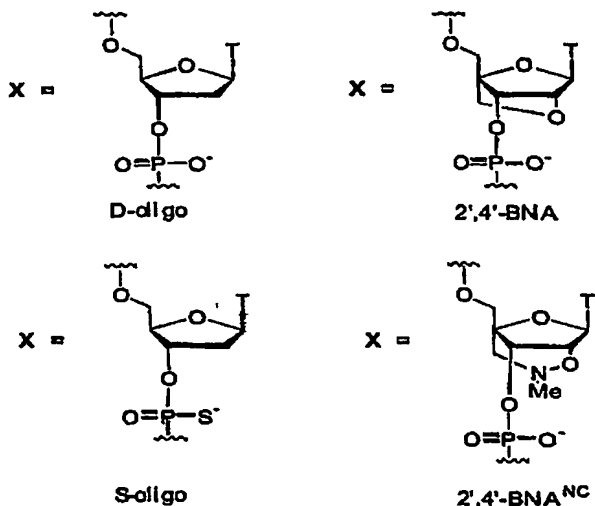
2) 一定時間後、HPLC で各オリゴヌクレオチド類の残存率を測定する。

測定に用いたオリゴヌクレオチドの配列を以下に示す。

5'-TTTTTTTXXT-3'

【0117】

【化 7】



【0118】

(このうち、XがDNAモノマーの場合、完全天然型DNAオリゴヌクレオチドであり、他のヌクレオチド類縁体を含むオリゴヌクレオチドは部分非天然型オリゴヌクレオチドである。また、Xが2',4'-BNA^{NC}であるオリゴヌクレオチド類縁体が本発明のオリゴヌクレオチド類縁体である。)

HPLCによる各オリゴヌクレオチド類の残存率の経時変化を表6及び図1に示した。

【0119】

表6及び図1中、「% of intact oligonucleotide」とは、0時点における未分解オリゴヌクレオチドに対する、測定時点における未分解オリゴヌクレオチドの残存率% (HPLC定量)を示す。

【0120】

【表6】

酵素耐性評価

oligonucleotide	% of intact oligonucleotide					
	0min	5min	10min	20min	40min	90min
D-oligo	100	0	0	0	0	0
2',4'-BNA	100	37	24	5	1	0
S-oligo	100	94	92	91	83	70
2',4'-BNA ^{NC}	100	100	99	98	94	80

【0121】

表6および図1の結果から、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、天然型及びその他の非天然型のオリゴヌクレオチドに比較して優れた酵素耐性を有していることがわかった。

【図面の簡単な説明】

【0122】

【図1】本発明のオリゴヌクレオチド類縁体(8)と、天然型及び非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体をエキソヌクレアーゼで分解した時の経時変化を、HPLC定量による未分解オリゴヌクレオチドの残存率として示すグラフである。

【配列表】

<110> Imanishi Takeshi
<120> Artificial Nucleic acid Analogue having N-O crosslinkied Structure
<130> I-352-17
<160> 10

<210> 1
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> modified_base
<222>
<223> Antisense
<400> 1
gcgttntttgct

<210> 2
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> modified_base
<222>
<223> Antisense
<400> 2
gcgttntntgct

<210> 3
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> modified_base
<222>
<223> Antisense
<400> 3
gcgntntntgct

<210> 4
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> modified_base
<222>

<223> Antisense

<400> 4

gcgttnnntgct

<210> 5

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified_base

<222>

<223> Antisense

<400> 5

gcgnnnnnngct

<210> 6

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified_base

<222>

<223> Antisense

<400> 6

ttttntntntntnt

<210> 7

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified_base

<222>

<223> Antisense

<400> 7

ttttnntntnnntnt

<210> 8

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified_base

<222>

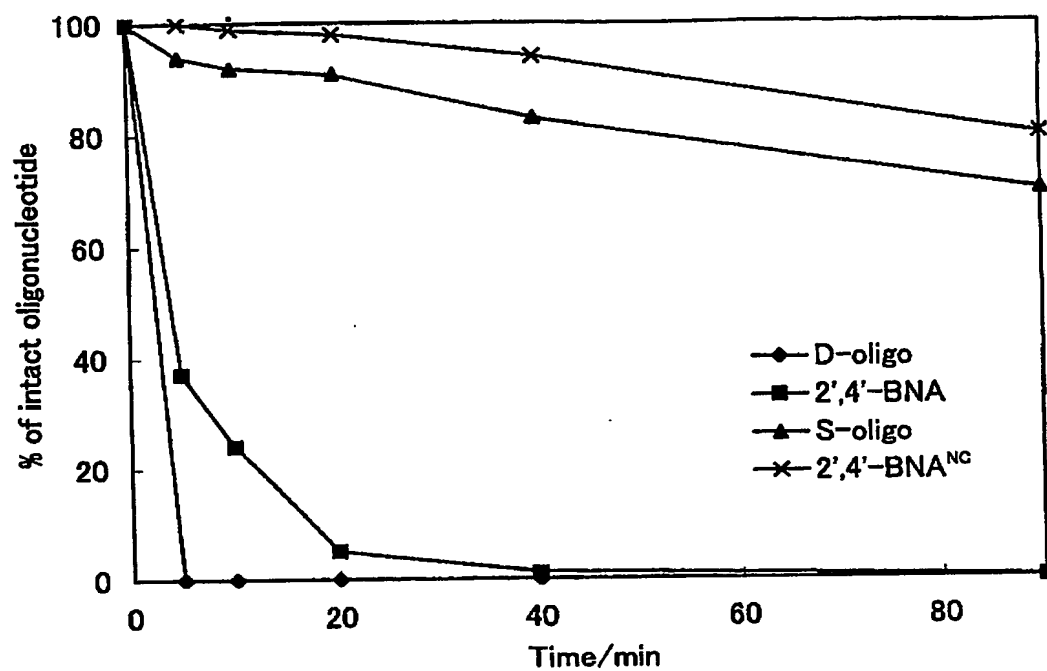
<223> Antisense

<400> 8

tttttttnt

【書類名】 図面

【図 1】

酵素耐性評価 (2',4'-BNA^{NO} oligonucleotide, SVPDE 0.5 µg/ml)

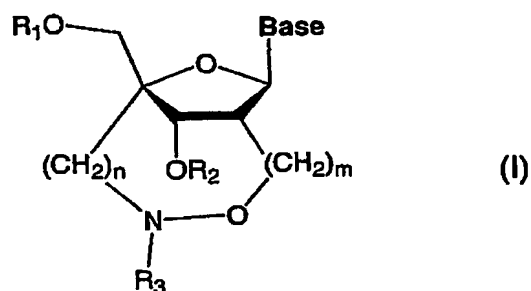
【書類名】 要約書

【要約】

【目的】 アンチセンス法などに有用な、優れた酵素耐性を有し、一本鎖RNAへの強い選択的結合親和性を有し、更に二本鎖DNAに対する優れた三重鎖形成能を有するオリゴヌクレオチド類縁体、及びこれを製造するために有用なヌクレオシド類縁体を提供するものである。

【構成】 一般式 (I) で表される化合物及びその塩であるヌクレオシド類縁体及びこれを1個以上含むオリゴヌクレオチド類縁体。

【化1】



(式中、Baseは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基など；R₁、R₂、R₃は、水素原子、アミノ基の保護基、水酸基の保護基、リン酸基、-P(R₄)R₅ [式中、R₄およびR₅は、水酸基、保護された水酸基、メルカプト基、保護されたメルカプト基など]；m=0~2；n=1~3を示す。)

特願 2003-304847

出願人履歴情報

識別番号

[594147039]

1. 変更年月日
[変更理由]
住所
氏名

1994年 8月31日
新規登録
奈良県奈良市千代ヶ丘2丁目2-18
今西 武